

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 工 藤 道 弘

主論文 1 編

Inhibition of Regulatory Volume Decrease Enhances the Cytocidal Effect of Hypotonic Shock in Hepatocellular Carcinoma
Journal of Cancer 7(11): 1524-1533, 2016

審 査 結 果 の 要 旨

肝細胞癌の腫瘍破裂症例では腹膜播種を生じることが知られ、腫瘍破裂症例に対する効果的な播種予防方法の開発が課題とされている。一方で低浸透圧刺激は癌細胞の破裂を誘導し殺腫瘍効果を示すとされ、蒸留水を用いた腹腔内洗浄は術後腹膜播種再発の予防に期待されている治療法の一つである。しかしながら、細胞には **regulatory volume decrease (RVD)** という細胞容積の調整機構が存在し、遊離癌細胞が破裂を回避する可能性があり、十分な殺腫瘍効果が得られない可能性がある。

申請者らの今回の研究は、肝細胞癌に対して **RVD** 阻害下に低浸透圧刺激を加えることで、より効果的な低浸透圧による殺腫瘍効果が得られないかを検証したものである。まずヒト肝癌細胞株を用いて、**high speed camera** に位相差顕微鏡を接続し蒸留水による細胞形態への影響を調べ、4 倍から 7 倍まで容積が増大し約 7,8 分間破裂までに時間を要することを示した。次に **electric volume** の測定可能な **flow cytometer** を用い、低浸透圧における容積の経時的変化を確認した。その結果、1/8 程度までの **mild** な低浸透圧では **RVD** が生じることが観察された。さらに低浸透圧による殺腫瘍効果を確認するため蒸留水を接着細胞と浮遊細胞に一定時間暴露した後、癌細胞の **viability** を 48 時間再培養した後の増殖細胞数で検証した。その結果、時間依存的に **viability** は低下し、蒸留水の様な **severe** な低浸透圧では十分な殺腫瘍効果が得られることが判明した。そこで **RVD** が生じ得る **mild** な低浸透圧下での殺腫瘍効果の増強を目指し、**RVD** 阻害下の低浸透圧刺激の効果を検証した。**RVD** の生じる機序とされる **Cl⁻, K⁺, water channel** これら各々の阻害剤である **NPPB, Quinine, HgCl₂** を用いて、**RVD** が阻害されるかを検証した。各々の阻害剤併用によって、有意な **RVD** 阻害効果が観察された。さらに低浸透圧刺激と各阻害剤の併用は、再培養後の細胞数を有意に減少させ殺腫瘍効果の増強も確認された。申請者らの過去の研究成果から、蒸留水で腹腔内洗浄を行った際、洗浄液の浸透圧はすぐに上昇し **mild** な低浸透圧となることが判明しており、単純な蒸留水のみでの腹腔内洗浄法では十分な殺腫瘍効果、播種再発予防効果が得られない可能性がある。しかしながら、申請者らが示した **RVD** 阻害下に蒸留水洗浄を行うことで、画期的で有効な低浸透圧性殺腫瘍効果が得られる可能性がある。

以上が本論文の要旨であるが、肝細胞癌において **RVD** 阻害下の低浸透圧刺激が、単純な低浸透圧刺激よりも有効な殺腫瘍効果を示すことを実証し、これは腹膜播種再発予防を目指した臨床応用も大いに期待できる治療法となり得ると考えられる。この様な点で医学上価値のある研究と認める。

平成 29 年 1 月 19 日

審査委員 教授 伊 藤 義 人 ㊞

審査委員 教授 奥 田 司 ㊞

審査委員 教授 加 藤 則 人 ㊞